

ふりがな氏名	なんどう ももえ 南堂 百映
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 766 号
学位授与の日付	平成 27 年 3 月 6 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	Effects of Novel Synthetic Peptide during Early Wound Healing of Periodontal Artificial Defects in Rats (ラット人工的歯周組織欠損部の早期創傷治癒過程における新規合成ペプチドの影響)
学位論文掲載誌	Journal of Oral Tissue Engineering 第 12 巻 第 2 号 平成 26 年 12 月
論文調査委員	主査 梅田 誠 教授 副査 田中 昭男 教授 副査 前田 博史 教授

論文内容要旨

歯周組織の再生を目的として Emdogain® (EMD) が広く臨床応用されている。しかしながら、EMD はブタ由来の物質であるので、未知の物質を含んでいる可能性があるとともに、雑多なタンパク質によって構成されているため、抗原性をもつといった問題点が指摘されている。旧タイプの EMD をラット背部皮下に注射すると好酸性の円形小体が多数形成され、これを解析するとアメロジェニン遺伝子エクソン 5 の部分配列が主成分であった。この部分配列の作用を明らかにするために同アミノ酸配列をもったペプチドを人工的に合成した（新規合成ペプチド）。この新規合成ペプチドは、雑多なタンパク質からなる EMD とは異なり、分子量、1,118 Da の 7 残基のアミノ酸のみから構成されており、抗体が産生されるリスクは考えにくい。*in vitro* 研究で、歯肉上皮細胞、歯根膜線維芽細胞および血管内皮細胞に対する新規合成ペプチドの影響が明らかにされているが、*in vivo* 研究での報告はほとんどなく、未解明な点が多く残されている。本研究では、ラットに人工的な歯周組織欠損を作製し、その創傷治癒過程における新規合成ペプチドの影響を病理組織学的に観察した。

Sprague-Dawley 系雄性ラットの上顎臼歯部に作製した人工的歯周組織欠損部に、1.5% propylene glycol alginate (PGA) 溶液で 15mg/ml の濃度に調整した新規合成ペプチドを貼付した。新規合成ペプチドを含有せず、1.5% PGA 溶液のみを貼付したものを対照群とした。術後 3、5、7 および 14 日に術部を含む上顎を採取し、通法によってホルマリン固定パラフィン標本を作製し、Hematoxylin-Eosin 染色に加えて、抗Ⅲ型コラーゲン抗体および抗 von Willebrand 因子 (factor VIII) 抗体を用いた免疫組織化学的染色を行い、検鏡した。

術後 3 日の実験群では、創面が歯肉溝上皮と歯肉接合上皮で封鎖され、創の治癒は早く、炎症細胞浸潤の少ない血餅で充たされていた。術後 5 日では対照群と比較して線維芽細胞が多く、線維化傾向がみられ、術後 7 日になると線維化が進行し、治癒が促進していた。Ⅲ型コラーゲンの局在は対照群、実験群ともに形成された肉芽組織に術後 5 日から 7 日にかけてみられ、術後 14 日には実験群での局在は減少したが、対照群は術後 7 日と同程度であった。作製した標本上の単位面積当たりの脈管総数に対する von Willebrand 因子陽性の脈管数（血管数）を算定すると、対照群に比べて実験群では、血管数の割合は有意に高くなり、治癒過程早期の血管新生が促進された。すなわち、新規合成ペプチドは創傷治癒過程の早期に作用することで歯周組織再生を促進させることが示唆された。

論文審査結果要旨

歯周組織の再生を目的として Emdogain® (EMD) が広く臨床応用されている。しかしながら、EMD はブタ由来の物質であるので、未知の物質を含んでいる可能性があるとともに、雑多なタンパク質によって構成されているため、抗原性をもつといった問題点が指摘されている。旧タイプの EMD をラット背部皮下に注射すると好酸性の円形小体が多数形成され、これを解析するとアメロジェニン遺伝子エクソン 5 の部分配列が主成分であった。この部分配列の作用を明らかにするために同アミノ酸配列をもったペプチドを人工的に合成した（新規合成ペプチド）。この新規合成ペプチドは、雑多なタンパク質からなる EMD とは異なり、分子量、1,118 Da の 7 残基のアミノ酸のみから構成されており、抗体が産生されるリスクは考えにくい。in vitro 研究で、歯肉上皮細胞、歯根膜線維芽細胞および血管内皮細胞に対する新規合成ペプチドの影響が明らかにされているが、in vivo 研究での報告はほとんどなく、未解明な点が多く残されている。本研究では、ラットに人工的な歯周組織欠損を作製し、その創傷治癒過程における新規合成ペプチドの影響を病理組織学的に観察した。

Sprague-Dawley 系雄性ラットの上顎臼歯部に作製した人工的歯周組織欠損部に、1.5% propylene glycol alginate (PGA) 溶液で 15mg/ml の濃度に調整した新規合成ペプチドを貼付した。新規合成ペプチドを含有せず、1.5% PGA 溶液のみを貼付したものを対照群とした。術後 3、5、7 および 14 日に術部を含む上顎を採取し、通法によってホルマリン固定パラフィン標本を作製し、Hematoxylin-Eosin 染色に加えて、抗Ⅲ型コラーゲン抗体および抗 von Willebrand 因子 (factor VIII) 抗体を用いた免疫組織化学的染色を行い、検鏡した。

術後 3 日の実験群では、創面が歯肉溝上皮と歯肉接合上皮で封鎖され、創の治癒は早く、炎症細胞浸潤の少ない血餅で充たされていた。術後 5 日では対照群と比較して線維芽細胞が多く、線維化傾向がみられ、術後 7 日になると線維化が進行し、治癒が促進していた。Ⅲ型コラーゲンの局在は対照群、実験群ともに形成された肉芽組織に術後 5 日から 7 日にかけてみられ、術後 14 日には実験群での局在は減少したが、対照群は術後 7 日と同程度であった。作製した標本上の単位面積当たりの脈管総数に対する von Willebrand 因子陽性の脈管数（血管数）を算定すると、対照群に比べて実験群では、血管数の割合は有意に高くなり、治癒過程早期の血管新生が促進された。

以上の結果は新規合成ペプチドが創傷治癒過程の早期に作用することで歯周組織再生を促進させることを解明した点において本論文は博士(歯学)の学位を授与するに値すると判定した。